



Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de *Staphylococcus* spp. coagulase negativa de um rebanho leiteiro caprino em Santa Maria da Boa Vista - PE

[Antimicrobial drugs sensitivity patterns of coagulase-negative *Staphylococcus* spp. from a dairy goat farm in Santa Maria of Boa Vista-PE]

"Artigo Científico/Scientific Article"

NPC Andrade¹, RM Peixoto², DM Nogueira³, CC Krewer⁴, MM Costa^{5(*)}

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, UNIVASF, Petrolina - PE, Brasil.

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, Campus Floresta - PE, Brasil.

³ Embrapa Semi-Árido, Petrolina - PE, Brasil.

⁴ UFSM, Santa Maria - RS, Brasil.

⁵ Colegiado de Zootecnia – UNIVASF, Petrolina – PE, Brasil.

Resumo

O objetivo desse trabalho foi determinar a frequência de *Staphylococcus* spp. coagulase negativa e seu perfil de sensibilidade aos principais antimicrobianos em um rebanho de caprinos leiteiros na região semi-árida do Nordeste brasileiro. Foram analisadas 168 amostras de leite de 84 cabras, sendo 40 da raça Saanen, 28 Pardo Alpina e 16 mestiças provenientes de uma propriedade no município de Santa Maria da Boa Vista - PE, no período de outubro a novembro de 2007. Os *Staphylococcus* spp. coagulase negativa foram isolados em 26,8% (45/168) amostras de leite analisadas, sendo que 88,9% (40/45) foram identificadas como *S. epidermidis* e 11,1% (5/45) como *S. caprae*. Todos os 45 isolados (100,0%) foram sensíveis a ciprofloxacina e a norfloxacina, 44 (97,8%) das amostras a nitrofurantoina, 42 (93,3%) a ceftriaxona, 40 (88,8%) a oxacilina, 37 (82,2%) a gentamicina, 32 (71,1%) a sulfametoxazol, 30 (66,6%) a neomicina, 25 (55,5%) a lincomicina, 22 (48,8%) a penicilina G, 20 (44,4%) a tetraciclina e 18 (40,0%) a ampicilina. *Staphylococcus* coagulase negativos foram os agentes envolvidos na mastite subclínica das cabras. As diferenças observadas nos perfis de sensibilidade demonstram a importância da realização de testes para identificação do agente etiológico e da sua sensibilidade aos agentes antimicrobianos, com o intuito de eleger o tratamento apropriado.

Palavras-chave: etiologia, mastite, qualidade do leite.

Abstract

The objective of this study was to determine the frequency of coagulase negative *Staphylococcus* spp. and antimicrobial drugs sensitivity in a dairy goats farm in the semi-arid zone of North-eastern Brazil. A total of 168 milk samples were analyzed from a farm in Santa Maria of Boa Vista, Pernambuco State, from October to November of 2007. Eighty four dairy goats (40 Saanen, 28 Pardo Alpina and 16 crossbreed) were used. Coagulase negative *Staphylococcus* spp. were isolated from 26.8% (45/168) milk samples, being 88.9% (40/45) identified as *S. epidermidis* and 11.1% (5/45) as *S. caprae*. All 45 bacterial isolated (100.0%) were susceptible to ciprofloxacin and norfloxacin, 44 (97.8%) to nitrofurantoin, 42 (93.3%) to ceftriaxone, 40 (88.8%) to oxacillin, 37 (82.2%) to gentamicin, 32 (71.1%) to trimethoprim:sulfamethoxazole, 25 (55.5%) to lincomycin, 20 (44.4%) to tetracycline, 18 (40.0%) to ampicillin, 30 (66.6%) to neomycin and 22 (48.8%) to penicillin. Coagulase negative *Staphylococcus* spp. was associated to subclinical mastitis in goats. The difference observed in susceptibility patterns indicates the importance of diagnostic testes and antimicrobial susceptibility tests to implement a correct treatment.

Key-words: etiology, mastitis, milk quality.

(*) Autor para correspondência/Corresponding author : e-mail - mateus.costa@univasf.edu.br

Recebido em: 24 de fevereiro de 2010.

Aceito em: 22 de setembro de 2011.

Introdução

A caprinocultura leiteira tem crescido de forma significativa na agropecuária brasileira, conquistando novos mercados para o leite de cabra e seus derivados. Todavia, na região Nordeste (NE) do Brasil, a maior parte da produção visa à subsistência, sendo consumida próximo aos locais de produção (NOGUEIRA et al., 2008). A mastite promove redução na produção de leite e do período de lactação, podendo ser transmitida para outros animais, que quando cronicamente afetados necessitam ser descartados (FONSECA e SANTOS, 2000). Esta é ocasionada por vários micro-organismos, particularmente de origem bacteriana, que podem ser classificados em agentes contagiosos e ambientais. Os contagiosos são transmitidos fundamentalmente no momento da ordenha ou no ato de mamar do filhote e são representados por *Staphylococcus* coagulase positiva, *Staphylococcus* coagulase negativa, *Streptococcus agalactiae* e *Corynebacterium bovis*. Os agentes ambientais são transmitidos antes e após as ordenhas e incluem principalmente as enterobactérias (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*), *Nocardia* spp. *Pseudomonas aeruginosa*, fungos e algas (RADOSTITS et al., 2002; CONTRERAS et al., 2007).

O diagnóstico da mastite pode ser realizado por meio de métodos diretos e indiretos. Dentre os métodos indiretos, estão o “California Mastitis Test” (CMT) e o “Whiteside” (TWS) (MOTA, 2007). Já a análise microbiológica, constitui-se em um método direto cujo objetivo é a identificação do agente etiológico mediante cultivo e isolamento laboratorial. Esta técnica é considerada como padrão para o diagnóstico da mastite em pequenos ruminantes (CONTRERAS et al., 2007).

Os *Staphylococcus* spp. têm sido apontados como os principais patógenos responsáveis pela mastite intramamária em pequenos ruminantes (COUTINHO et al., 2006; DOMINGUES et al., 2006; LANGONI et al., 2006; CONTRERAS et al., 2007; ALMEIDA, 2009; BOLSANELLO et al., 2009). Artigo descrevendo a caracterização de *Staphylococcus* spp. obtidos de mastite em

caprinos do nordeste brasileiro são encontrados na literatura (SILVA et al., 2004). Todavia, não foram achados dados sobre a prevalência e a sensibilidade aos antimicrobianos do *Staphylococcus* spp. nos rebanhos de cabras leiteiras no sertão do submédio do São Francisco. Portanto, objetivou-se analisar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de *Staphylococcus* spp. coagulase negativa de um rebanho leiteiro caprino em Santa Maria da Boa Vista - PE

Material e Métodos

Este trabalho foi desenvolvido nos meses de outubro e novembro de 2007, com cabras leiteiras de uma propriedade rural em Santa Maria da Boa Vista, no Pernambuco. As análises laboratoriais foram realizadas nas instalações do Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, localizado em Petrolina-PE.

Foram utilizadas 84 cabras com três a cinco meses de lactação, sendo, deste total, 40 Saanen, 28 Pardo Alpina e 16 mestiças. Os animais estavam sendo submetidos a pastoreio rotativo em piquetes irrigados de capim Tanzânia (*Panicum maximum* cv. Tanzânia) pela manhã. À tarde, os animais eram recolhidos ao aprisco para receber suplementação volumosa de capim Elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) e ração concentrada com 16% de proteína bruta, sendo que a água e o suplemento mineral eram fornecidos à vontade.

As amostras de leite foram coletadas pela manhã, após os procedimentos higiênicos que antecedem a ordenha, tais como lavagem dos tetos com água clorada e secagem com papel toalha. Foram utilizados frascos estéreis, identificados e acondicionados sob refrigeração (4°C) em caixas isotérmicas, sendo encaminhados, imediatamente, ao Laboratório.

No laboratório, com o auxílio de uma pipeta estéril, foi realizado o teste “Whiteside” na proporção de quatro partes de leite para uma parte de reagente (NaOH 5%). Este teste foi usado para quantificar a resposta inflamatória presente nas amostras, sendo interpretado como: negativo (ausência de grumos), (+)

fracamente positivo (poucos grumos), (++) positivo (moderado número de grumos) e (+++) fortemente positivo (elevado número de grumos). Para o isolamento bacteriano, as amostras foram semeadas em Ágar sangue a 5%, com o auxílio de uma alça de platina e levadas para a estufa a 37°C. A leitura das placas foi realizada após 24 e 48h, e os agentes bacterianos foram identificados por meio de características morfológicas, bioquímicas e tintoriais (QUINN et al., 1994).

O perfil de sensibilidade dos micro-organismos foi determinado por meio do método de difusão em disco Kirby-Bauer modificado (BAUER et al., 1966). As drogas antimicrobianas avaliadas foram: tetraciclina (30mcg), ciprofloxacina (05µg), gentamicina (10mcg), ampicilina (10mcg), norfloxacina (10mcg), oxacilina (01mcg), ceftriaxona (30mcg), lincomicina (02mcg), nitrofurantoina

(300mcg), sulfametoxazol (25mcg), neomicina (30mcg) e penicilina G (10UI).

Resultados e Discussão

Os resultados do teste de “Whiteside” e cultivo bacteriano são apresentados na Tabela 1. Observou-se que 26,8%, (45/168) das amostras avaliadas apresentaram crescimento microbiano após 48h de incubação do cultivo. Foram identificados 40 isolados como *S. epidermidis* e cinco como *S. caprae*. Os *Staphylococcus* coagulase negativa são o grupo de micro-organismos de maior ocorrência em glândulas mamárias, no interior do canal galactóforo e no úbere de cabras, onde podem causar infecções durante toda a lactação, persistir por alguns meses, ou até mesmo no período seco (EAST et al., 1987). Esses agentes estão associados a mastites subclínicas em cabras (SILVA et al., 2004; CONTRERAS et al., 2007).

Tabela 1 - Cultivo bacteriano e testes de “Whiteside” das amostras de leite oriundas de um rebanho de cabras leiteiras, em Santa Maria da Boa Vista, PE, 2007

Cultivo bacteriano	Whiteside				
	Fortemente positivo	Positivo	Fracamente positivo	Negativo	Amostras
SCN*	14	15	31	63	123
<i>S. epidermidis</i>	05	05	11	17	38
<i>S. caprae</i>	01	-	01	01	03
<i>S. epidermidis</i> + <i>S. caprae</i>	-	-	01	03	04
Total	20	20	44	84	168

*SCN – *Staphylococcus* coagulase negativa.

O teste de “Whiteside” aponta para uma frequência de mastite subclínica no rebanho de 23,8%, considerando-se os testes positivos e fortemente positivos, os quais são preconizados como referência para a avaliação da infecção intramamária (GONZÁLEZ-RODRIGUEZ e CÁRMENES, 1996). Contudo, 20,23% das amostras negativas e fracamente positivas no teste de “Whiteside” apresentaram crescimento de *Staphylococcus* coagulase negativa. Segundo Contreras et al. (2007), os testes indiretos para detecção de mastite em pequenos ruminantes são úteis, desde que associados ao cultivo bacteriológico.

O *S. epidermidis* é usualmente associado com elevadas contagens de células somáticas, o que é característico de infecções subclínicas (CONTRERAS et al., 1999). Neste

estudo, o agente de maior prevalência nos caprinos leiteiros foi o *S. epidermidis*, o que pode estar associado a condições inadequadas de higienização dos tetos. Entretanto, dentre os *Staphylococcus* coagulase negativa, o *S. caprae* é geralmente obtido com maior frequência de animais com mastite subclínica, seguido de *S. epidermidis* (MORONI et al., 2005). Alguns estudos têm demonstrado a capacidade de *S. caprae* persistir de uma a outra lactação (CONTRERAS et al., 2007).

O isolamento de *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN) geralmente está associado à ausência de sinais clínicos evidentes. Contudo, podem causar infecções persistentes, as quais resultando numa maior contagem de células somáticas (CCS), tendo como principal consequência a diminuição da

qualidade do leite (TAPONEN e PYÖRÄLÄ, 2009).

O perfil de sensibilidade aos antimicrobianos apresentou grande variação (Figura 2). As drogas com maior percentual de sensibilidade foram: ciprofloxacina e norfloxacina (100%), seguidas de nitrofurantoina (97,8%), ceftriaxona (93,3%), oxacilina (88,8%), gentamicina (82,2%), sulfametoxazol (71,1%), neomicina (66,6%) e lincomicina (55,5%). As drogas com percentual de sensibilidade menor de 50% foram: penicilina G (48,8%), tetraciclina (44,4%) e a ampicilina (40%). Estudo realizado por Moroni et al. (2005) demonstrou a resistência dos isolados de *S. epidermidis* a amoxicilina, contudo a sensibilidade aos

demais beta-lactâmicos (ampicilina e penicilina G) foi variada. Os mesmos autores demonstraram a baixa sensibilidade a tetraciclina, tal fato foi semelhante ao observado no presente estudo. Isolados de *Staphylococcus* spp. provenientes de casos de mastite em caprinos e ovinos tendem a ser menos resistentes aos antimicrobianos (GONI et al., 2004; CONTRERAS et al., 2007). Os grupos de antimicrobianos utilizados na terapia humana e veterinária são os mesmos e com isto a resistência cruzada pode ocorrer. Desta forma, estes patógenos podem representar um risco à saúde pública, especialmente pelo consumo de queijo cru (GONI et al., 2004; CONTRERAS et al., 2007).

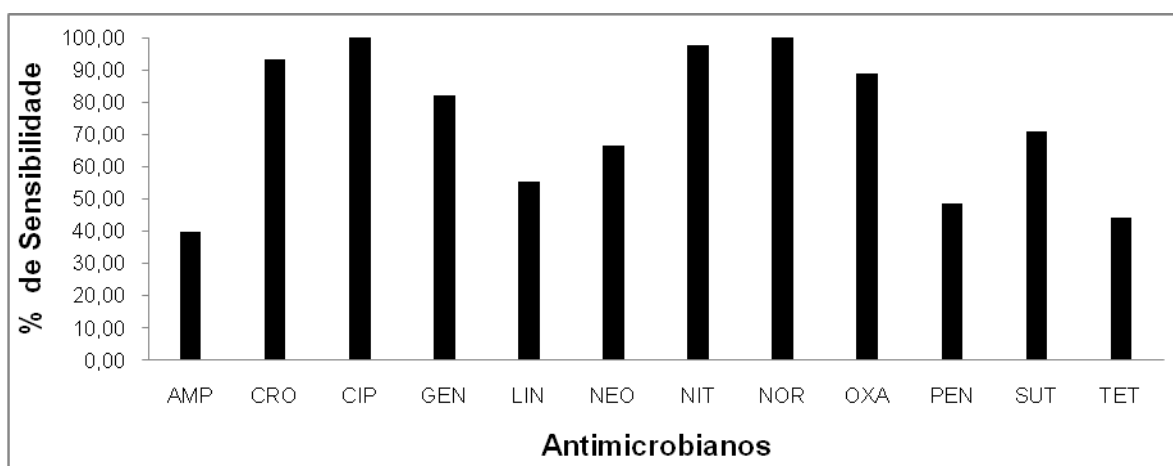


Figura 1 - Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de isolados de *S. epidermidis* e *S. caprae* obtidos de caprinos leiteiros em Santa Maria da Boa Vista, PE, 2007. AMP (ampicilina); CRO (ceftriaxona); CIP (ciprofloxacina); GEN (gentamicina); LIN (lincomicina); NEO (neomicina); NIT (nitrofurantoina); NOR (norfloxacina); OXA (oxacilina); PEN (penicilina G); SUT (sulfametoxazol); TET (tetraciclina).

Além dos antimicrobianos, outra medida de controle da mastite subclínica é a higienização dos tetos, que demonstra grande eficiência, prevenindo novas infecções intramamárias, especialmente por *Staphylococcus* coagulase negativo (BERGONIER e BERTHELOT, 2003). Outra importante medida para a prevenção ao surgimento de novas infecções é o monitoramento sanitário dos rebanhos através da utilização dos testes de diagnóstico como o CMT, a contagem de células somáticas (CCS)

e o exame bacteriológico do leite (CONTRERAS et al., 2007). Além disto, a reposição de fêmeas deve ser preferencialmente realizada com animais criados na propriedade, pois animais de outras propriedades podem desencadear novos surtos (GONI et al., 2004). No presente estudo, isto pode ter ocorrido, uma vez que os animais foram adquiridos em outras propriedades da região. As diferenças observadas nos perfis de sensibilidade demonstram a importância da realização de testes para identificação do

agente etiológico e da sua sensibilidade aos agentes antimicrobianos, com o intuito de eleger o tratamento apropriado. Além disso, faz-se a realização de novos estudos visando a determinação dos agentes etiológicos da mastite na região que poderão subsidiar a implantação de medidas sanitárias preventivas.

Agradecimentos

À Agência de Cooperação Internacional do Japão (JICA) pela liberação de parte dos recursos financeiros para execução dessa pesquisa.

Referências

- ALMEIDA, J.F. **Agentes infecciosos causadores de mastite e parâmetros físico-químicos na qualidade do leite de cabra in natura**. 2009. 106p. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, RJ.
- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, p.493-496, 1966.
- BERGONIER, D. e BERTHELOT, X. New advances in epizootiology and control of ewe mastitis. **Livestock Production Science**, v.79, p.1-16. 2003.
- BOLSANELLO, R.X.; HARTMAN, M.; DOMINGUES, P.F.; MELLO JÚNIOR, A.Z.; LANGONI, H. Etiologia da mastite em ovelhas Bergamácia submetidas à ordenha mecânica, criadas em propriedade de Botucatu, SP. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.1, p.221-227, 2009.
- CONTRERAS, A., M. J. PAAPE, AND R. H. MILLER. Prevalence of subclinical intramammary infection caused by *Staphylococcus epidermidis* in a commercial dairy goat herd. **Small Ruminant Research**, v.31, p.203-208, 1999.
- CONTRERAS, A., SIERRA, D., SÁNCHEZ, A., J.C., CORRALES, J.C., MARCO, J.C. PAAPE, M.J. GONZALO, C. Mastitis in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v.68, p.145-163, 2007.
- COUTINHO, D.A.; COSTA, J.N.; RIBEIRO, M.G.; TORRES, J.A. Etiologia e sensibilidade antimicrobiana in vitro de bactérias isoladas de ovelhas da raça Santa Inês com mastite subclínica. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.7, n.2, p.139-151, 2006.
- DOMINGUES, P.F.; LUCHEIS, S.B.; SERRÃO, L.S.; FERNANDES, L.S.; CONTENTE, A.P.A.; MARTINS, E.C.V.; LANGONI, H. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite subclínica em ovelhas da raça Santa Inês. **Ars Veterinária**, v.22, n.2, p.146-152, 2006.
- EAST, N. E.; E. F. BIRNIE, AND T. B. FARVER. Risk factors associated with mastitis in dairy goats. **American Journal of Veterinary Research**, v.48, p.776-779, 1987.
- FONSECA, L.F.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.
- GONI, P.; VERGARA, Y.; RUIZ, J.; ALBIZU, I.; VILA, J.; GOMEZ-LUS, R. Antibiotic resistance and epidemiological typing of *Staphylococcus aureus* strains from ovine and rabbit mastitis. **International Journal of antimicrobial Agents**, v. 23, p. 268-272, 2004.
- GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M.C. e CÁRMENES, P. Evaluation of the California mastitis test as a discriminant method to detect subclinical mastitis in ewes. **Small Ruminant Research**, v.21, p.245-250, 1996.
- LANGONI, H.; DOMINGUES, P.F.; BALDINI, S. Mastite caprina: seus agentes e sensibilidade frente a antimicrobianos. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.13, n.1, p.51-54, 2006.
- MORONI, P.; PISONI, G.; ANTONINI, M.; RUFFO, G.; CARLI, S.; VARISCO, G.; BOETTCHER, P. Subclinical Mastitis and Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus caprae* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from two Italian Herds. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.1694-1704, 2005.
- MOTA, R.A. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e controle das mastites em caprinos e ovinos. In: III Simpósio Internacional sobre Caprinos e Ovinos de Corte (SINCORTE), 3, 2007, João Pessoa, **Anais**. João Pessoa, 2007. CD-ROM.
- NOGUEIRA, D.M.; CHAPAVAL, L.; NEVES, A.L.A.; DA COSTA, M.M. **Passos para obtenção do leite de cabra com qualidade**. Comunicado Técnico, 135. p.1-6. Embrapa Semi-Árido, Petrolina, 2008.
- QUINN, P.J., CARTER, M.E., MARKEY, B., CARTER, G.R. **Clinical veterinary Medicine**. London: Mosby-Year ed., 1994, 648p.
- RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, C.D.; HINCHCLIFF, K.W. **Clínica veterinária: um tratado de doenças de bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9º. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.
- SILVA, E. R.; SIQUEIRA, A.P.; MARTINS, J.C.D.; FERREIRA, W.P.B.; SILVA, N. Identification and in vitro antimicrobial

susceptibility of *Staphylococcus* species isolated from goat mastitis in the Northeast of Brazil. **Small Ruminant Research**, v.55, p.45-49, 2004.

TAPONEN, S.; PYÖRÄLÄ, S. Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis – Not so different from *Staphylococcus aureus*? **Veterinary Microbiology**, v.134, p.29-36, 2009.